"PATHOLOGICA"

RIVISTA QUINDICINALE

N.° 89. 15 Luglio 1912 Anno IV.

DR. GIACOMO GROSSO

Laboratorio di Terapia Sperimentale di Genova, diretto dal Prof. A. Bruschettini.

a 302

La colorazione simultanea, diretta, con miscuglio di verde metile, pironina ed orange G. nella tecnica istologica, istopatologica ed ematologica.

La colorazione simultanea nella tecnica

LA COLORAZIONE SIMULTANEA, DIRETTA, CON MISCUGLIO DI VERDE METILE, PIRONINA ED ORANGE G. NELLA TECNICA ISTOLOGICA, ISTOPATOLOGICA ED EMATOLOGICA.

DR. GIACOMO GROSSO

Laboratorio di Terapia Sperimentale di Genova, diretto dal Prof. A. Bruschettini.

I tessuti, in genere, sono tingibili con quasi tutti i colori, siano essi di natura basica, che acida. La colorazione poi è *sostantiva*, allorquando la materia colorante agisce di per sè, senza intermediario ed *aggettiva*, quando non può effettuarsi senza l'aiuto di un mordente. Il metodo tintoriale dimostrativo, che ha reso e rende così grandi servigi nelle ricerche istologiche, è per lo più basato sull'impiego di mordenti, i quali, per citare un esempio, hanno conferito tanta utilità all'ematossilina ed al carmino, sostanze del resto affatto disadatte per la tinzione sostantiva.

Ma noi sappiamo, specialmente per gli studii di Pappenheim, che questi mordenti alterano sempre la cromatofilia naturale e, quantunque rendano la colorazione assai stabile e resistente all'azione di agenti chimici, non permettono poi di potere senz'altro affermare che il substrato colorato abbia una naturale affinità colla sostanza tingente. Certamente finchè, secondo gli insegnamenti di Auerbach, si credette che il processo di colorazione fosse puramente fisico, che dipendesse cioè dall'attrazione molecolare e dall'imbibizione superficiale, non si poteva sentire il bisogno di studiare le affinità speciali degli elementi dei tessuti, prima distinti, a seconda della maggiore o minore ampiezza dei pori della loro materia, in *cianofili* ed *eritrofili*. Questa teoria era destinata a perdere molto in importanza e ciò succedette in seguito agli studî di Ehrlich, il quale, proponendosi come scopo principale della colorazione la ricerca di reazioni microchimiche, sostenne e dimostrò le affinità chimiche e la facoltà d'elezione dei diversi substrati di fronte alle sostanze coloranti. Gli splendidi risultati di tali ricerche sono compendiati nella differenziazione delle granulazioni leucocitarie colla colorazione simultanea.

Il sistema di colorazione elettiva, che oggi tende sempre più a farsi strada, trae le sue origini dalla conoscenza di alcune sostanze coloranti, che sembrano specialmente atte per reazioni microchimiche: il verde metile, che ha infatti la proprietà di preferire, fra tutte le sostanze cellulari basofile, solamente i nuclei, ed il suo contrapposto colore acido, la indulina, che pure tingendo quasi tutti i substrati, non colora i bacilli del carbonchio ematico (Pappenheim) (1).

E' quindi manifesto che esiste un'elezione e che il procedimento di colorazione, pure non negando importanza ad un processo fisico, è di natura chimica; per cui sarebbe a desiderare che per la colorazione istologica si trovassero nuove sostanze con proprietà specifiche come quelle del verde metile.

Tenendo conto del carattere tintoriale del verde metile e del principio teoretico al quale s'era informato Ehrlich, per la composizione di un miscuglio di verde metile, pironina e narceina (2), Pappenheim (3) ha richiamato fin dal 1908 l'attenzione degli studiosi di ematologia sull'impiego di colorazioni simultanee a base di verde metile e pironina soli od uniti coll'orange G.

(1) Pappenheim, Grundriss der Farbchemie - pag. 112.
(2) Ehrlich P., Anämie, 1. Teil, 1. Aufl., pag. 27.
(3) A. Pappenheim. Zur Kenntnis und Würdigung der Methylgrün - Pyronin - Methode. Fol. häm. 1908, H. I.

Convinto dell' importanza di questo sistema di colorazione policromatica, incominciai fino dal 1909 ad occuparmi della composizione di un miscuglio neutrale di verde metile, pironina ed orange G. e resi già noti, in parte, i risultati a cui pervenni in una comunicazione fatta verso la fine dell' anno stesso (1).

Come già si è accennato il verde di metile è specialmente atto per la colorazione dei nuclei, perchè questi pel loro contenuto (nucleina) dispongono dell' acidità sufficiente per iscomporre quel sale molto stabile, che è il verde metile (2). Ma questo ha per gli altri substrati tingibili, per esempio pel plasma dei leucociti e per le granulazioni basofile, così poca affinità che non avviene una colorazione di tali elementi. Quindi un miscuglio, che contenga fra i componenti basici solo il verde metile, non ci darà una colorazione panoptica. Questo è il caso del triacido di Ehrlich, per cui Pappenheim, già da lungo tempo, ha proposto la sostituzione del bleu di metilene al verde metile.

Ora nel miscuglio, di cui mi sono occupato, oltre al verde metile entra ancora un' altra sostanza colorante basica, la pironina, la quale dà una colorazione perfetta del plasma (spongioplasma e paraplasma) delle cellule e specialmente dei mononucleati. L' importanza di questo colore nell'ematologia è stata avvalorata ancora in uno dei più recenti lavori di Pappenheim (3), nel quale ci vengono forniti i dati per potere spiegare l' origine e la evoluzione delle cellule sanguigne.

Fa poi ancora parte della miscela un componente di natura acida, l' orange G., sicchè, oltre alla differenziazione netta dei nuclei e del citoplasma, si avrà anche quella delle granulazioni acidofile.

E' dunque un miscuglio neutrale, costituito da colori, non solo di diversa *nuance,* ma anche di carattere differente, cioè di due colori basici ed uno acido.

Occorre ora rammentare che lo scopo precipuo di tale metodo tintoriale è di formarsi un criterio della affinità chimica naturale degli elementi istologici; ciò importa di evitare possibilmente l' aggiunta di agenti chimici alla soluzione colorante, che quindi sarà di preferenza acquosa.

Nel primo mio lavoro su questo argomento ho anche esposto i risultati ottenuti con soluzioni fenicate e glicerinate, i quali non furono sfavorevoli, poichè l' azione mordenzante positiva dell' acido fenico veniva controbilanciata da quella negativa della glicerina. Che anzi, prima di giungere alla giusta neutralizzazione delle soluzioni acquose, tali miscugli mi avevano già reso buoni servigi. Ma poichè, specialmente per gli scopi ematologici, sono utilizzabili solo soluzioni acquose, mi indugerò sulla composizione di queste.

Le sostanze coloranti fondamentali da me adoperate sono quelle fornite dal Laboratorio del dott. Grübler di Lipsia: di queste vennero fatte soluzioni in acqua distillata, concentrate e tenute alla temperatura ambiente, per poi eseguire il miscuglio, come dirò appresso.

Intanto è necessario accennare che, allo scopo di ottenere una soluzione neutrale di queste tre specie di sostanze coloranti, io procedetti in modo diverso da quello seguito da Pappenheim. Egli, come mi ha comunicato per lettera e poi anche a voce, si serve di una miscela di tre parti di orangeato di verde metile e due di orangeato di pironina. Per ottenere gli orangeati Pappenheim usa una soluzione acquosa all' 1-2 % di orange G, alla quale poi aggiunge, a gocce, soluzioni concentrate di verde metile o pironina, sinchè il precipitato, che si forma, si sciolga di nuovo.

Quando venni a conoscere questo procedimento io ero già a buon punto nelle mie ricerche e quindi seguitai a lavorare secondo il mio metodo. Questo si fonda sul principio della maggiore energia tintoriale della pironina, di contro al verde metile. Anche la pironina colora i nuclei e quindi, quando essa entri nella miscela in un col verde metile, tende a diminuire la potenza tintoriale e la elettività del verde per la cromatina. Un preparato colorato con una miscela in cui predomini la pironina, il verde metile non può esplicare la sua azione. Quando invece vi si aggiunga, a goccie, soluzione satura di Orange G., avviene un precipitato nel quale è trascinato l' eccesso di pironina, di modo che il verde metile riguadagna pienezza d' azione tintoria Ma il rapporto - *verde metile e pironina* - deve sempre rimanere tale che i nuclei sieno tinti in verde e le granulazioni basofile delle *Mastzellen* mature presentino la colorazione metacromatica L' aggiunta di Orange, dunque non può oltrepassare un certo limite, che è appunto stabilito dalla reazione delle granulazioni V.; dato che avvenga un eccesso nell'aggiunta, allora rimangono predominanti nel miscuglio il verde e l' orange, esso non è più neutrale e le granulazioni V si colorano imperfettamente o nient' affatto. Questo proce-

---

(1) Grosso G., Ueber die Herstellung von Meth. Grün - Pyronin - Orange G. - Neutralmischungen. Fol. häm. I. Teil Archiv, Bd. IX, 1910.

(2) Pappenheim A., Grundriss der Farbchemie, pag. 212.

(3) Pappenheim A., Neue zytomorphologische Studien an Blutzellen mit farbenanalistischen Methoden, Fol. häm. Archiv. Bd. IX, pag. 572.

dimento di neutralizzazione può essere controllato, nei diversi suoi momenti, con adatti preparati istologici. Ma si può ricorrere anche a qualche artifizio; osservare, p. es., come avviene la diffusione delle diverse sostanze coloranti su d'una striscia di carta da filtro, sulla quale venga lasciata cadere una gocciola della soluzione. Allora quando il miscuglio corrisponde allo scopo, si ha la seguente gradazione: rosso, verde e giallo, cioè la diffusione, per le singole sostanze, avviene secondo le loro proprietà fisiche. Però, quanto più il miscuglio è concentrato, tanto meno evidenti sono le linee di demarcazione tra un colore e l'altro.

Pertanto l'equilibrio fra il verde metile e la pironina deve essere ristabilito dall'orange; inoltre questo non deve essere aggiunto in eccesso, come già si è accennato. La quantità del colore acido deve essere tale che la pironina non tenda a volgere del tutto verso la colorazione bleu la tinta data dal verde metile e che tutti gli elementi acidofili abbiano a loro disposizione una adeguata quantità del colore acido. Le granulazioni α dovranno quindi colorarsi in bel giallo insieme cogli eritrociti, la sostanza connettiva fondamentale in giallo pallido, mentre i suoi elementi, cellule connettive e clasmatociti, devono prendere soltanto il verde ed il rosso.

Se l'orange è stato aggiunto in eccesso, allora avremo una bella colorazione verde dei nuclei, ma la pironina sarà insufficiente per la colorazione delle sostanze basofile e specialmente per le Mastzellen i cui granuli si tingeranno appena. I preparati colorati con tale miscuglio non sono nè belli, nè durevoli.

Dopo ciò che è stato esposto, un miscuglio delle tre sostanze accennate sarà neutrale allorquando la pironina sarà appunto sufficiente a mettere in rilievo la basiplastina e l'orange a dare risalto alla plastina acidofila ed all'occorrenza anche alla carioplastina acidofila. L'eccesso di verde di metile è affatto trascurabile, poichè questa sostanza ha bensì grande affinità colla carioplastina, ma, sotto l'azione del lavaggio e della disidratazione dei preparati, sfugge troppo facilmente dai pori voluminosi del substrato colorato (cromatina). Se un eccesso non esistesse, si avrebbe lo scoloramento dei nuclei.

Premessi questi cenni, dò qui la formula che serve bene nella colorazione dei preparati, sia istologici che ematologici:

Verde di metile	soluzione	satura	cmc.	3.20
Pironina	»	»	»	6 —
Orange G.	»	»	»	1 —
Acqua distillata	»	»	»	75

La miscela si eseguisce, tenendo l'ordine esposto, in un cilindretto graduato della capacità di 10 cmc. e versando le soluzioni concentrate susseguentemente nella boccetta che contiene già l'acqua distillata. Ogni qualvolta si versa una sostanza si scuote bene la boccetta e per ultimo si lava ancora il cilindretto col contenuto della boccetta. La soluzione è pronta per l'uso dopo 24 ore di riposo, non appena sia stata filtrata e si conserva, senza alterarsi, per un tempo assai lungo.

La colorazione delle sezioni avviene in modo semplicissimo portando il preparato nella soluzione e tenendovelo per cinque o dieci minuti; rimanendovi anche più a lungo, non si ha sopracolorazione.

Il trattamento successivo consiste nel lavaggio rapido con acqua distillata, disidratazione con alcool assoluto a rischiaramento con xilolo; inclusione in balsamo di Canadà puro.

Il materiale istologico fissato nel formolo al 4 % o nell'alcool è specialmente adatto per la colorazione col miscuglio; meno lo è quello fissato in formolo di Orth e nella soluzione concentrata di sublimato. I preparati conservano inalterata la loro colorazione.

I preparati di sangue fatti col metodo dei vetrini coprioggetti, secondo Ehrlich (1), devono essere perfetti, se si vogliono avere buoni risultati. La fissazione si eseguisce al calore, sulla lastra di rame, come insegna Ehrlich, ma seguendo il procedimento modificato da Rubinstein (2), che raccomanda di fissare ad una temperatura superiore a 120° C., la quale si ha nel punto della lastra dove una gocciola d'acqua depostavi non bolle più, ma scivola via crepitando. Durata di fissazione 30-40 secondi.

La colorazione si pratica in vetrini da orologio, nei quali si mette il vetrino coprioggetti, capovolto sulla soluzione colorante; si copre con un altro vetrino da orologio. I preparati di sangue rimangono così all'incirca 5 minuti, poi si lavano rapidamente con acqua distillata e si asciugano soffiando via d'un colpo l'acqua di lavaggio; inclusione in balsamo di Canadà puro.

Il metodo di colorazione è, come si vede, semplice assai; ciò non vuol dire che si possa raccomandare a coloro che appena sono iniziati nel delicato procedimento di colorazione istologica e, tanto meno, di preparati di sangue.

Il metodo è atto a portare veri vantaggi qualora si sappiano perfettamente valutare;

(1) Ehrlich - Lazarus, Die Anämie - II. Aufl. 1909. pag. 24.

(2) Schmorl, Die pathologisch-histologischen Untersuchungs methoden, IV Aufl., pag. 180.

diversi sistemi di tinzione e si abbia completa padronanza della tecnica al riguardo.

Considerazione sulla colorazione delle sezioni. — Come si è già accennato il miscuglio contiene due colori basici, di cui uno colora soltanto i nuclei ed uno acido. Si avrà dunque colorazione verde dei nuclei e rossa della sostanza protoplasmatica; ma la pironina ha anche la proprietà di dare colorazione metacromatica, per cui si avrà la rappresentazione fedele delle granulazioni delle Mastzellen completamente sviluppate.

La colorazione rossa si ha in tutte le gradazioni, dal rosso vivo al brunastro, a seconda dello stato di sviluppo nel quale si trova lo spongioplasma. La pironina per di più colora quasi tutti i batteri e cocchi, ciò che è di grandissimo vantaggio per l'istopatologia.

Tutte le sostanze acidofile vengono tinte in giallo dall'orange: quindi le granulazioni α appariranno in giallo e questo colore si mescolerà pure al rosso nella tinzione del citoplasma se questo non sarà completamente differenziato. Perchè quando in esso predomina assolutamente lo spongioplasma, la colorazione è decisamente rossa, come nelle Mastzellen e nelle Plasmazellen; quando invece esiste anche traccia di paraplasma si avrà tinta mista di rosso e giallo. Ciò si osserva in molte cellule anche a seconda del loro diverso stato di attività ed, in genere, nelle epatiche

Riassumendo, questo metodo di colorazione istologica tripla, *uno actu*, dà una tinzione che permette di differenziare i più importanti substrati, dei quali rivela anche la maggiore o minore basicità ed acidità.

Preparati di sangue. — E' specialmente per questi che io dovetti ripetere grande numero di esperienze per potere giungere alla neutralizzazione del miscuglio. Fino dalle prime preparazioni mi ero proposto di ottenere la differenziazione di alcune cellule del sangue delle cavie ed in ispecie del coniglio, dopo essermi fatto la convinzione che gli altri sistemi adottati nell'ematologia non corrispondevano a tale scopo. Composi pertanto la soluzione in modo che mi servisse per la colorazione di sangue umano e l'applicai in seguito, per gli studii comparativi, ai preparati di sangue di coniglio.

In un preparato di sangue dell'uomo, fissato secondo il metodo accennato, troviamo i corpuscoli rossi colorati in giallo oro (se esiste policromofilia, in giallo misto a rosso), i neutrofili non hanno granulazioni, il loro plasma è leggermente giallognolo. I nuclei delle cellule neutrofile sono verdi, bene delimitati, come anche sono visibili i sottili filamenti che costituiscono il legame fra i diversi seguenti nucleari. Le cellule acidofile sono rappresentate assai bene, le loro granulazioni sono rotonde e di colore giallo splendente. Gli altri elementi mononucleati sono mirabilmente differenziati in ogni dettaglio, reso già noto da Pappenheim nel suo magistrale Atlante (1). Le piastrine sono appena accennate in rosa gialliccio.

A completare adunque la colorazione del sangue umano, non mancherebbe che la rappresentazione delle granulazioni neutrofile. Anche questo si può avere, allorquando si impieghi un miscuglio, nel quale si sia spinto un pò la neutralizzazione, arrivando proprio al limite, sorpassato il quale non si ha più differenziazione alcuna. Questo miscuglio però non è già più adatto per le sezioni, le quali, colorandosi meno facilmente dei preparati di sangue, subito rilevano una leggera deficienza di pironina.

I neutrofili dei preparati di sangue umano hanno pertanto granulazioni rosso-gialliccie, fini, qualche volta però più grosse di quelle che si osservano nei preparati colorati col triacido di Ehrlich. Alcuni polinucleati hanno granulazioni di colore quasi rosso puro: questi poi hanno anche un maggior numero di granulazioni; potrebbero corrispondere a forme giovani. Esaminando ora preparati di sangue di cavia, ci colpisce tosto la presenza di granulazioni neutrofile, simili a quelle osservate nei preparati precedenti di sangue umano, nei polinucleati, già ritenuti come cellule anfofile. Anche Furno (2) propende a credere che esistano nel sangue della cavia cellule neutrofile e non nega che le constatazioni di Mezincescu e Niegolewski, a questo proposito, abbiano un valore. Certo esiste, come tosto vedremo, una grande differenza fra queste cellule polinucleate della cavia e quelle del coniglio, le quali, solo eccezionalmente, presentano qualche accenno alla neutrofilia.

I preparati di sangue di coniglio sono quelli che mettono in risalto la proprietà più importante di questo sistema tintoriale: *la differenziazione delle cellule a granulazioni acidofile vere dalle pseudoacidofile*, così numerose nel sangue di questo animale, che vennero dai tedeschi chiamate *Spezialzellen*, le quali corrisponderebbero ai neutrofili dell'uomo.

Finora non era possibile ottenere una distinzione netta degli acidofili veri, nè col triacido di Ehrlich, nè colle colorazioni di Giemsa, Leishmann e May-Grünwald, perchè tutte queste soluzioni forniscono troppa sostanza colorante acida alle cellule pseudo acidofile, il cui paraplasma è colorabile assai fa-

---

(1) Pappenheim A., Atlas der menschlichen Blutzellen. Tav. 17-18-19.

(2) Furno A., Beiträge zur Kenntnis der vergleichenden Hämatologie der Spezialleukozyten - Granülationen, etc. Fol. häm. Bd. XI, 1911.

cilmente coll'eosina e colla fucsina acida. Secondo le ricerche di Furno (l. c.) è invece possibile una tale distinzione solamente nei preparati colorati col triacido di Ehrlich, nei quali le cellule acidofile sono provviste di granuli più grandi e tinti in rosso rame.

Il miscuglio ora rappresenta le cellute acidofile sotto un aspetto sostanzialmente diverso da quello delle pseudoacidofile o Spezialzellen, perchè quelle posseggono un plasma giallo composto di granulazioni intensamente colorate, queste invece un plasma debolmente giallo.

Esse possono inoltre avere un numero vario, mai molto grande, di granulazioni giallo-rosse o rosse, leggermente metacromatiche, se si colora coll' altro miscuglio, dal quale poco fa feci cenno a proposito del sangue umano. Granulazioni pironinofile, anche metacromatiche, osservai poi specialmente in cellule di essudato, le quali si colorano molto più facilmente col solito miscuglio neutrale; queste sono anche di grandezza varia, ma non troppo cospicua. Corrispondono perfettamente alle granulazioni basofile cui accennano Pappenheim e Szécsi (1) e che sono riprodotte nelle figure 1-7 della tavola annessa al loro lavoro.

Degno di essere rilevato è anche il fatto che Furno (l. c. pag. 235) colorando col miscuglio di verde e pironina *soli* non iscorse granulazioni alcune nelle Spezialzellen.

Una differenza così profonda fra le cellule acidofile e le pseudoacidofile fa sì che nessuno possa confonderle fra di loro. Chi non ha osservato che preparati di sangue di coniglio colorati coi comuni metodi, scorrendo preparati fatti col miscuglio, rimarrà sorpreso di trovare pochissime cellule acidofile, dove egli credeva poterne vedere molte.

A proposito di queste *Spezialzellen* ripeto che buon numero di esse non possiede che un plasma leggermente accennato in giallo, senza che in esse si possa, anche con miscela speciale, mettere in risalto granulazione alcuna. Questo fatto permette pertanto di ritenere, con Pappenheim e Szécsi, che tali cellule rappresentino le forme di *Spezialzellen* affatto prive di spongioplasma, cioè mature, le quali vengono a porsi accanto agli altri elementi costanti del sangue del coniglio, pure completamente evoluti, alle cellule acidofile (1).

---

(1) Pappenheim, Szécsi. — Hämatologische Beobachtungen bei experimenteller Saponinvergiftung der Kaninchen. Fol. häm. Archiv. Bd. XIII, pag. 38.

(1) Il miscuglio, di cui si è trattato, si potrà avere dal Laboratorio Chimico Grübler, diretto dal Dottore K. Hollborn, di Lipsia, Kronprinzstrasse 71. Con ciò verrà raggiunto il doppio scopo di avere un preparato di composizione costante e di evitare la noia della preparazione.

Per l' inclusione dei preparati colorati il dott. Hollborn fornisce pure un balsamo speciale, molto raccomandabile.

"PATHOLOGICA,,

RIVISTA QUINDICINALE

Diretta da: G. Banti (Firenze) - O. Barbacci (Siena) - A. Bignami (Roma) - A. Bonome (Padova) - E. Centanni (Siena) - A. Cevidalli (Modena) - A. Cesaris-Demel (Pisa) - A. Dionisi (Palermo) - A. Fabris (Genova) - G. Guerrini (Milano) - C. Golgi (Pavia) - G. Guarnieri (Pisa) - A. Lustig (Firenze) - E. Marchiafava (Roma) - G. Martinotti (Bologna) - A. Monti (Pavia) - B. Morpurgo (Torino) - A. Pepere (Cagliari) - G. Pianese (Napoli) - C. Sacerdotti (Cagliari) - I. Salvioli (Padova) - O. v. Schrön (Napoli) - G. Tarozzi (Modena) - N. Tiberti (Ferrara) - G. Tizzoni (Bologna) - A. Trambusti (Palermo) - G. Vassale (Modena).

Pubblicata da: Pio Foà (Torino) - Gino Galeotti (Napoli) - Luigi Griffini (Genova)

Comitato di Redazione: N.G. Bernabei (Siena) - G. Bolaffi (Cagliari) - C. H. Browning (Glasgow) - G. Cagnetto (Padova) - F. De Gasperi (Torino) - B. De Vecchi (Bologna) - G. Sangiorgi (Torino) - F. Fulci (Roma) A. Marrassini (Pisa) - L. Negri (Pavia) - U. Parodi (Genova) - R. Pirone (Pietroburgo) - S. Rebaudi (Roma) - P. Rondoni (Firenze) - M. Sapegno (Torino) - V. Scaffidi (Buenos Ayres) - U. Soli (Palermo) - F. Vanzetti (Torino).

Redattore Capo: Mario Segale

Gli studi italiani sul colera

Lavori originali pubblicati da "Pathologica,, nel 1912

Quello che non si sa sulla patologia del colera.

E. Ravenna — Virulenza e tossicità dei vibrioni colerici di provenienza varia.

M. A. Palmieri. — Il rigonfiamento polmonare acuto nel colera. - Sua importanza clinica e significato fisio-patologico.

G. Cagnetto. — Il vibrione colerigeno nelle vie biliari dell'uomo.

C. Rolla. — La tossicità del siero di sangue nel colera.

S. Rebaudi. — L'apparecchio glandulare sudorifero nell'infezione colerica mortale.

G. Appiani. — Della deviazione del complemento nella differenziazione dei vari stipiti di vibrioni colerigeni.

M. Segale. — Studi biochimici sul sangue del coleroso.

M. Vivaldi. — Malati di colera e portatori. - Persistenza dei vibrioni nelle feci. - Virulenza dei vibrioni del colera nei portatori. - Un vibrione patogeno isolato dall'acqua di un canale.

G. Ficai. — Fenomeno paradosso dell'agglutinazione del vibrione colerigeno.

G. Pulvirenti. — Di una modificazione al metodo di Bandi per la diagnosi batteriologica del colera asiatico.

N. Consoli. — Violente forme di colera e forma di vibrione.

N. Consoli. — Glicerina e raccolta di feci.

D. Carbone e G. Pighini. — Sulla diagnosi batteriologica rapida del colera (Ricerche comparative e applicazioni pratiche).

N. Consoli. — Portatori e causale di scoppio di colera.

V. Ronchetti. — Caso di trasmissione dell'infezione colerica per mezzo delle ostriche (Decorso, esame ematologico, esito).

T. Masi. — Brevi appunti sui casi di colera osservati a Bologna.

N. Consoli. — Breve nota di terapia del colera.

N. Consoli. — Tentativi di autosieroterapia nel colera.

A. Palmieri, C Rolla e M. Segale. — Tentativi di sieroterapia omologa nel colera.

V. De Bonis. — Ricerche sui portatori sani di vibrioni colerigeni.

A. Missiroli. — Sul potere emolitico del vibrione colerigeno.

B. De Vecchi e F. Randone. — Alcune osservazioni batteriologiche e statistiche praticate durante l'epidemia colerica nella provincia di Siracusa.

V. Venuti. — Il vibrione del colera nel tubo digerente dei vermi.

Coi tipi dello Stab. Schenone - Genova.